

6T-CEM rakud | 305132**Üldine teave****Description**

6T-CEM rakuliin on inimese ägeda lümfoblastse leukeemia (ALL) T-rakkude liini CCRF-CEM mutantne derivaat. See on välja töötatud, kui CEM-vanuserakud eksponeeriti 6-tioguaaniinile, mille tulemusena valiti välja alamliin, mis on selle ühendi suhtes resistentne. See resistentsus on tingitud HPRT-geeni inaktiveerimisest, mis on kriitilise tähtsusega puriinide päästeteel. 6T-CEM rakud on olnud eriti väärtuslikud ravimresistentsuse mehhanismide uurimisel, eriti seoses puriini analoogidega, nagu 6-tioguaaniin. Lisaks sellele iseloomustab neid rakke ainulaadse T-rakkude supressori indutseeriva faktori (SIF) sekretsioon, mis ei ole mitte ainult mittemidogeenne ja mittetsütotoksiline, vaid on ka võimeline pärssima T-rakkude proliferatsiooni, säästes samas B-rakkude proliferatsiooni teatud lahjenduste juures.

6T-CEM rakud ja nende alamkloonid, nagu 6T-CEM-20, on näidanud selle supressor-indutseeriva faktori tootmise märkimisväärset suurenemist, millel on potentsiaalsed rakendused immunoloogilistes uuringutes, eriti T-rakkude regulatsiooni ja immuunsupressiooni uurimisel. On näidatud, et nende rakkude poolt eritatav SIF pärssib kuni 90% mitogeeni poolt indutseeritud T-rakkude proliferatsiooni äärmiselt suurtes lahjendustes (kuni 10^{-9}), mis muudab need rakud tõhusaks mudeliks immuunvastuse moduleerimisega seotud terapeutiliste strateegiate uurimiseks. Nende rakkude kasutamine erinevates eksperimentaalsetes seadeldistes on andnud ülevaate immuunsupressiooni molekulaarsetest alustest, mis võib mõjutada autoimmuunhaiguste ravi väljatöötamist ja elundisiirdamise kontekstis, et vältida siirdandi hülgamist.

Organism Inimene**Tissue** Perifeerne veri**Disease** T-rakuline äge lümfoblastiline leukeemia**Synonyms** 6-T CEM**Omadused****Age** 4 aastat**Gender** Naised**Ethnicity** Aasia**Morphology** Lümfoblastid**Growth properties** Peatamine**Regulatiivsed andmed**

6T-CEM rakud | 305132**Citation** 6T-CEM (Cytioni katalooginumber 305132)**Biosafety level** 2**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_6869**Biomolekulaarsed andmed****Töötlemine****Culture Medium** Alpha MEM, w: 2,0 mM stabiilne glutamiin, w/o: Ribonukleosiidid, w/o: Deoksüribonukleosiidid, w: 1,0 mM naatriumpüruvaat, w: 2,2g/L NaHCO₃**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS-ga**Subculturing** Homogeniseerige kolvis olev rakususpensioon õrnalt pipeteerides üles-alla, seejärel võtke representatiivne proov, et määrata rakkude tihedus ml kohta. Lahjendage suspensiooni värske kultuurikeskkonnaga, et saavutada rakkude kontsentratsioon 1×10^5 rakku/ml, ja jaotage reguleeritud suspensioon uute kolvide vahel edasiseks kasvatamiseks.**Fluid renewal** 2 kuni 3 korda nädalas**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

6T-CEM rakud | 305132

Thawing and Culturing Cells

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu $300 \times g$ juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , niisutatud atmosfäär.

Flask Coating

Puudub

Freezing Procedure

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

Shipping Conditions

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

6T-CEM rakud | 305132

Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.